

**MVA.HTI and ChAdOx1.HTI
B/ES/18/21**

**RESUMEN DE LA NOTIFICACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE
ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE
DISTINTOS DE LAS PLANTAS SUPERIORES DE ACUERDO
CON EL ARTÍCULO 11 DE LA DIRECTIVA 2001/18/CE**

17 de Agosto de 2018

*****NOTA PARA LOS REVISORES DE ESTE DOSIER*****

Los organismos modificados genéticamente (OMG) a utilizar en el ensayo son:

- **MVA.HTI**
- **ChAdOx1.HTI**

Serán administrado solos o de forma secuencial con GS-9620. Ambos han sido desarrollados por el mismo sponsor.

El OMG **MVA.HTI** ya ha sido liberado en el ensayo clínico “Estudio de seguridad y respuesta inmunológica a la combinación de las vacunas DNA.HTI y MVA.HTI para el VIH-1 en pacientes VIH-1 positivos tratados de forma precoz” (AELIX-002). El número de expediente para esta liberación es B/ES/16/11.

Por sugerencia del Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente , la información relacionada únicamente a **MVA.HTI** no será repetida en este dossier. Toda la información es accesible a los revisores en el expediente B/ES/16/11.

A. Información de carácter general

1. Detalles de la notificación

a) Estado miembro de la notificación:	España
b) Número de la notificación:	B/ES/18/21
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	13-07-2018
d) Título del proyecto:	<p>Desarrollo clínico de ChAdOx1.HTI como vacuna para tratar pacientes VIH-1 positivos de forma precoz.</p> <p>Ensayo clínico para el que se pide autorización de liberación:</p> <p>Estudio de Fase IIa, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, primero-en-humanos de la seguridad, tolerabilidad e inmunogenicidad de las vacunas candidatas MVA.HTI y ChAdOx1.HTI solas o administradas de forma secuencial con GS-9620 en pacientes VIH-1 positivos tratados de forma precoz (AELIX-003).</p>
e) Período propuesto para la liberación:	<p>Fecha del inicio del estudio: 30/09/2018</p> <p>Fecha prevista para el final del estudio es: 30/06/2020</p>

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa:	<p>Promotor del ensayo: AELIX Therapeutics Baldiri Reixac 4-8, Barcelona, España, 08028</p>
-------------------------------------	--

3. Definición del OMG ChAdOx1.HTI

a) Indíquese si el OMG es:	<p>Viroide <input type="checkbox"/></p> <p>Virus ARN <input type="checkbox"/></p> <p>Virus ADN <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>Bacteria <input type="checkbox"/></p> <p>Hongo <input type="checkbox"/></p> <p>Animal <input type="checkbox"/></p> <p>- mamíferos <input type="checkbox"/></p> <p>- insectos <input type="checkbox"/></p> <p>- peces <input type="checkbox"/></p> <p>- otro animal <input type="checkbox"/></p>
----------------------------	---

Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)
<p>b) Identidad del OMG (género y especie)</p> <p>Familia: Adenoviridae Género: Mastadenovirus Especie: adenovirus atenuado de chimpancé, sin capacidad de replicación, derivado del serotipo Y25.</p> <p>El organismo modificado genéticamente (OMG) a utilizar en el ensayo clínico es el ChAdOx1.HTI, un adenovirus recombinado de chimpancé, vivo, sin capacidad de replicación debido a deleciones y modificaciones genómicas.</p> <p>En el ChAdOx1.HTI se ha insertado el transgén que codifica para el inserto HTI con el objetivo de inducir una respuesta inmunológica VIH-1 específica de células T.</p>
Toda la información relativa a MVA.HTI se encuentra en el expediente B/ES/16/11

<p>c) Estabilidad genética, de acuerdo con el punto 10 de la letra A de la sección II del anexo III A:</p> <p>Una vez administrado, ChAdOx1.HTI se dirige y localiza en el núcleo de la célula huésped, sin embargo, no integra su ADN en el genoma de esta (Rauschhuber <i>et al.</i>, 2012; Athanasopoulos <i>et al.</i>, 2017). La integración del ADN de adenovirus en el genoma es un evento extremadamente raro que solo se ha observado en algunos cultivos de líneas celulares primarias humanas (Hogg, 2000). Según las guías de la Agencia Europea del Medicamento (EMA), los vectores adenovirales se consideran vectores no integradores (EMA/273974/2005, 2006).</p> <p>ChAdOx1.HTI es un virus genéticamente estable incapaz de integrar su ADN en el genoma del huésped y que permanece localizado en el citoplasma celular hasta la destrucción de la célula (Rauschhuber <i>et al.</i>, 2012; Athanasopoulos <i>et al.</i>, 2017).</p>
Toda la información relativa a MVA.HTI se encuentra en el expediente B/ES/16/11

4. ¿Tiene previsto el mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad (de acuerdo con el apartado 1 del artículo 6)?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
<p>En caso afirmativo, indique el código del país: MVA.HTI: ES, DK, FR, BE ChAdOx1.HTI: ES</p>	

5. Ha notificado ese mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo: - Estado miembro de la notificación: ES - Número de la notificación: MVA.HTI – AELIX-002: B/ES/16/11; MVA.HTI and ChAdOx1.HTI: B/ES/18/21	

6. Ha notificado el mismo notificador u otro la liberación o comercialización de ese mismo OMG fuera de la Comunidad?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo: - Estado miembro de la notificación: - - Número de la notificación: -	

7. Resumen del impacto ambiental potencial de la liberación de los OMG

No hay razones científicas para suponer que el empleo del transgén HTI como inserto en el vector viral ChAdOx1 modifique las características de distribución, “shedding” o capacidad replicativa con respecto a otros insertos utilizados en vectores virales similares como ChAd155 y ChAd63. Los adenovirus de chimpancé han sido utilizados en ensayos clínicos como una alternativa ventajosa con respecto a los adenovirus humanos debido a su gran capacidad para generar respuesta inmune, la posibilidad de insertar secuencias más largas y la falta de inmunidad contra el vector debido a la no exposición previa.

No se espera ninguna supervivencia del ChAdOx1.HTI dado que se encuentra exclusivamente en el citoplasma de la célula y es incapaz de producir partículas de vector en células humanas fuera del lugar de inoculación. La posibilidad de transferencia génica a otras especies es mínima en las condiciones de liberación propuestas. El producto también se controla por la aparición de virus competentes en la replicación durante la producción, así como por otros agentes adventicios.

Además, el ChAdOx1.HTI es un organismo atenuado para la replicación, no propagativo por lo que no se espera ninguna afectación a otros humanos, flora ni fauna cercana o lejana a la zona de liberación. La vacuna viral modificada genéticamente ChAdOx1.HTI no es capaz de sobrevivir, establecerse, diseminarse ni de desplazar a otros organismos, y no es patógena a animales ni plantas. La proteína quimérica -HTI -el transgén- está constituida por 16 fragmentos del genoma del VIH-1 no implicados en la patogenicidad del virus; además no contiene proteínas nativas enteras por lo que no es funcionalmente activa, no es peligrosa y no tiene efectos dañinos para otros organismos.

Con todo lo expuesto, la probabilidad de que ChAdOx1.HTI se haga persistente y sea invasivo en hábitats naturales es muy baja.

Existen antecedentes de la liberación de productos altamente similares en España, como el OMG ChAdV63.HIV bajo el expediente B/ES/12/09 y B/ES/12/10, así como el OMG ChAd155-RSV bajo el expediente B/ES/16/07. La proteína quimérica HTI-el transgén- también está siendo utilizada en ensayos clínicos en España, también para vacunas experimentales contra VIH-1 (GMO MVA.HTI) bajo el expediente B/ES/16/11. Durante el período de liberación, no se recogió ninguna incidencia o accidente.

Toda la información relativa a MVA.HTI se encuentra en el expediente B/ES/16/11

B. Información sobre el organismo receptor o sobre los organismos parentales de los que se deriva el OMG.

ChAdY25

El organismo receptor o parental, sobre el que las modificaciones genéticas han sido realizadas, es el adenovirus de chimpancé Y25 (ChAdY25). El serotipo Y25 (ChAdY25) que es el serotipo salvaje, se considera el receptor (virus parenteral) del producto. El ChAdY25 se obtuvo originalmente de William Hillis, Universidad de Medicina John Hopkins (Hillis et al., 1969; Dicks et al., 2012). ChAdOx1 es el serotipo Y25 tras haber sido modificado genéticamente e incapacitado para la replicación..

MVA

El vector de la viruela vacunoide de Ankara modificado (MVA) es un virus vaccinia vivo recombinante, atenuado por pases seriados en cultivos de fibroblastos de embrión de pollo (o CEF, del inglés, chicken embryo fibroblasts) y que contiene seis grandes deleciones genómicas con respecto al virus parental (15% del genoma parental ha sido delecionado), incluidos los genes de receptores de citoquinas, haciendo el MVA seguro para una aplicación clínica dada su limitada habilidad para replicar en células humanas.

***Toda la información relativa a MVA se encuentra en el expediente B/ES/16/11

1. Identificación del organismo receptor o parental:

ChAdY25

a) Indíquese si el organismo receptor o parental es :

Viroide

Virus ARN

Virus ADN

Adenovirus de chimpancé Y25

Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> (especifique el phylum y la clase)

Otros, (especifíquense):

El adenovirus de chimpancé Y25 se obtuvo originalmente de William Hillis, Universidad de Medicina John Hopkins (Hillis et al., 1969; Dicks et al., 2012). El aislado original fue de heces de chimpancé y fueron pasaron 6 veces en células HEp-2 antes de la caracterización inicial. La secuencia completa de su genoma está disponible como acceso de GenBank no. JN254802, así como la relación filogenética con otros serotipos (por comparación del hexón y las proteínas de fibra) y los principales componentes de la cápside expuestos a la superficie.

ChAdY25 se agrupa filogenéticamente con el virus E del adenovirus humano (HAdV), HAdV-4. Las secuencias de ADN de hexano y fibra de Y25, así como el adenovirus de simio SAdV-23, se agrupan por separado con otros miembros E de adenovirus humano.

*****Toda la información relativa a MVA se encuentra en el expediente B/ES/16/11**

2. Nombre

ChAdY25

i) Orden y taxón superior (animales): Adenoviridae
ii) Género: Mastadenovirus
iii) Especie: Subgrupo de adenovirus Simian E
iv) Subespecie: no aplica
v) Cepa: Adenovirus de chimpancé Y25
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): -
vii) Nombre vulgar: Adenovirus de chimpancé Y25

*****Toda la información relativa a MVA se encuentra en el expediente B/ES/16/11**

3. Distribución geográfica del organismo

ChAdY25

a) Autóctono del país que notifica o establecido en él:	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/>
b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos:	
i) Sí <input type="checkbox"/>	
En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra:	
Atlántico <input type="checkbox"/>	
Mediterráneo <input type="checkbox"/>	
Boreal <input type="checkbox"/>	
Alpino <input type="checkbox"/>	
Continental <input type="checkbox"/>	
Macaronésico <input type="checkbox"/>	
ii) No <input checked="" type="checkbox"/>	
iii) No se sabe <input type="checkbox"/>	
c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica?	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica?	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>

*****Toda la información relativa a MVA se encuentra en el expediente B/ES/16/11**

4. Hábitat natural del organismo

ChAdY25

a) Si es un microorganismo:	
Agua <input type="checkbox"/>	
Suelo, en libertad <input type="checkbox"/>	
Suelo, en simbiosis radiculares de plantas <input type="checkbox"/>	
En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas <input type="checkbox"/>	

En simbiosis con animales

Otros , (especifíquense):

Los adenovirus tienen distribución mundial. Los adenovirus de tipo silvestre se han detectado en aguas de todo el mundo, incluidas las aguas residuales, el agua de los ríos, el agua potable, los océanos y las piscinas. Los humanos y los animales son los reservorios naturales para los adenovirus de tipo salvaje.

El anfitrión natural del adenovirus ChAdY25 de tipo salvaje es el chimpancé. El adenovirus parental no se encuentra en el ecosistema natural fuera de su huésped natural. El organismo parental se aisló de las heces de un chimpancé y se modificó genéticamente. Fue creado y se mantiene en laboratorios debido a su incapacidad para la replicación (Hillis *et al.*, 1969; Dicks *et al.*, 2012).

b) Si es un animal, hábitat natural o ecosistema agrícola habitual:

No aplica.

Toda la información relativa a MVA se encuentra en el expediente B/ES/16/11

5.a) Técnicas de detección

ChAdY25

Los adenovirus se detectan mediante PCR según secuencias genéricas de adenovirus de chimpancé o específicas para el serotipo Y25. También pueden detectarse con ensayos de inmunocitoquímica utilizando anticuerpos específicos anti-hexón de ChAdY25.

•

Toda la información relativa a MVA se encuentra en el expediente B/ES/16/11

5.b) Técnicas de identificación

ChAdY25

Las mismas que en el apartado anterior (5a).

Toda la información relativa a MVA se encuentra en el expediente B/ES/16/11

6. **Está clasificado el organismo receptor con arreglo a las normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente?**

ChAdY25

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
--	-----------------------------

En términos de clasificación de peligro potencial, el adenovirus humano se considera como un agente biológico de tipo 2, según la clasificación de la Comunidad Económica Europea (CEE) para la protección de los trabajadores con agentes biológicos (Directiva 2000/54/EC, 2000).

La designación de grupo 2 se aplica a los agentes biológicos que puede causar enfermedades humanas y puede ser un peligro para los trabajadores, que es poco probable que se propaguen a la comunidad y para la cual generalmente hay disponible profilaxis o tratamiento efectivo. Sin embargo, muchos vectores adenovirales como nuestro organismo parental han sido construidos por delección de la región E1 que codifica genes clave requeridos para el crecimiento viral. Sin los genes de la región E1, los vectores adenovirales son incapaces de producir infección en humanos.

Vectores de chimpancé similares han sido ya utilizados en dos notificaciones previas para la liberación voluntaria de adenovirus recombinantes en ensayos clínicos (B/ES/12/09 y B/ES/16/07).

Toda la información relativa a MVA se encuentra en el expediente B/ES/16/11

7. ¿Es el organismo receptor, vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier otra forma?

ChAdY25

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo		
a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:		
humanos	<input type="checkbox"/>	
animales	<input type="checkbox"/>	
plantas	<input type="checkbox"/>	
otros	<input type="checkbox"/>	

b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección 11 del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE.

Los adenovirus humanos comúnmente causan infección asintomática en humanos, aunque también pueden causar infecciones del tracto respiratorio, gastrointestinales, incomodidad o infecciones oculares de severidad variable. Son más comunes en niños y en la población inmunocomprometida. El período de incubación varía de 1 a 10 días. La mayoría de la población es seropositiva para más de una subespecie de adenovirus y puede producir rápidamente anticuerpos neutralizantes.

Normalmente, el virus se infecta a través del tracto respiratorio o los ojos a través de aerosoles producidos por personas infectadas. La mayoría de las infecciones son de naturaleza leve. Los adenovirus raramente se integran en el genoma de las células huésped y no persisten en los tejidos linfoides.

Las infecciones por adenovirus en primates no humanos (NHP) también son predominantemente leves.

Los adenovirus de chimpancé son cada vez más utilizados en ensayos clínicos como una alternativa ventajosa con respecto a los adenovirus humanos debido a su gran capacidad para generar respuesta inmune, la posibilidad de insertar secuencias más largas y la falta de inmunidad contra el vector debido a la no exposición previa.

En términos de clasificación de peligro potencial, el adenovirus humano se considera como un agente biológico de tipo II, según la clasificación de la Comunidad Económica Europea (CEE) para la protección de los trabajadores con agentes biológicos (Directiva 2000/54/EC, 2000). La designación de grupo II se aplica a los agentes biológicos que puede causar enfermedades humanas y puede ser un peligro para los trabajadores, que es poco probable que se propaguen a la comunidad y para la cual generalmente hay disponible profilaxis o tratamiento efectivo. Sin embargo, tal y como se ha mencionado anteriormente, muchos vectores adenovirales como nuestro organismo parental, han sido construidos por delección de la región E1 que codifica genes clave requeridos para el crecimiento viral. Sin los genes de la región E1, los vectores adenovirales son incapaces de producir infección en humanos.

Vectores de chimpancé similares han sido ya utilizados en dos notificaciones previas para la liberación voluntaria de adenovirus recombinantes en ensayos clínicos (B/ES/12/09 y B/ES/16/07).

Toda la información relativa a MVA se encuentra en el expediente B/ES/16/11

8. Información sobre reproducción

ChAdY25

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

Se replica en células HEK 293 pero no se replica sin complementación de los genes perdidos.

b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado:

No aplica.

c) Modo de reproducción

No aplica.

Sexual

Asexual

d) Factores que afectan a la reproducción: No aplica.
Toda la información relativa a MVA se encuentra en el expediente B/ES/16/11

9. Capacidad de supervivencia

ChAdY25

a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo	
(i) endosporas	<input type="checkbox"/>
(ii) quistes	<input type="checkbox"/>
(iii) esclerocios	<input type="checkbox"/>
(iv) esporas asexuales(hongos)	<input type="checkbox"/>
(v) esporas sexuales (hongos)	<input type="checkbox"/>
(vi) huevos	<input type="checkbox"/>
(vii) pupas	<input type="checkbox"/>
(viii) larvas	<input type="checkbox"/>
(ix) otras (especifíquense):	Irrelevante.
b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia	
No se espera ninguna supervivencia del ChAdY25 dado que se encuentra exclusivamente en el citoplasma de la célula y es incapaz de producir partículas de vector en células humanas fuera del lugar de inoculación.	
Toda la información relativa a MVA se encuentra en el expediente B/ES/16/11	

10.a) Vías de diseminación

ChAdY25

ChAdY25 permanece localizado en el citoplasma celular hasta la destrucción de la célula. Según datos de estudios no clínicos y clínicos de productos similares, no se ha observado diseminación del vector fuera del punto de inyección.
Toda la información relativa a MVA se encuentra en el expediente B/ES/16/11

10.b) Factores que afectan a la diseminación

ChAdY25

La capacidad de propagación depende de la dosis, la formación de aerosoles y la proximidad de contacto así como las medidas de seguridad tomadas en el entorno de investigación establecido en el protocolo.

Toda la información relativa a MVA se encuentra en el expediente B/ES/16/11

11. **Modificaciones genéticas previas del organismo receptor o parental de las que ya se ha notificado la liberación en el país notificador (se darán los números de la notificación)**

ChAdY25

En España, dos OMG similares al propuesto en este documento (ChAd155-RSV y ChAdV63.HIVconsv) ya han sido notificados, con expedientes B/ES/16/07 y B/ES/12/09, y han sido liberados en diferentes ensayos clínicos.

Toda la información relativa a MVA.HTI se encuentra en el expediente B/ES/16/11

C. Información sobre la modificación genética

1. **Tipo de modificación genética:**

i) Inserción de material genético	<input checked="" type="checkbox"/>
ii) Eliminación de material genético	<input checked="" type="checkbox"/>
iii) Sustitución de una base	<input type="checkbox"/>
iv) Fusión celular	<input type="checkbox"/>
v) Otro (especifíquese)	<input type="checkbox"/>

2. **Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética**

ChAdOx1.HTI

El objetivo del proyecto es desarrollar un producto inmunoterapéuticos (a veces también denominado "vacuna terapéutica") para el tratamiento de la infección por VIH, a fin de lograr una cura funcional.

El transgén que codifica para el inserto HTI se ha insertado en el locus de la región E1, tras haber sido ésta eliminada.

Con estas modificaciones se pretende que aquellas células que sean infectadas por ChAdOx1.HTI puedan expresar el inmunógeno HTI para la activación de respuestas inmunitarias frente al virus VIH-1.

Toda la información relativa a MVA.HTI se encuentra en el expediente B/ES/16/11

3.a) ¿Se ha usado un vector en el proceso de modificación?

ChAdOx1.HTI

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso negativo, pase a la pregunta 5.	
Toda la información relativa a MVA.HTI se encuentra en el expediente B/ES/16/11	

3.b) En caso afirmativo, ¿está presente el vector, total o parcialmente, en el organismo modificado?

ChAdOx1.HTI

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso negativo, pase a la pregunta 5	
En el OMG final se incluirán como secuencia genética el casete de expresión recombinante con los antígenos del HTI y los genes de la cápside del OMG (fibra y hexón). Los demás genes son auxiliares y solo se usarán para el embalaje correcto del OMG.	
Toda la información relativa a MVA.HTI se encuentra en el expediente B/ES/16/11	

4. Si ha contestado afirmativamente a la pregunta 3 b), aporte la información siguiente

ChAdOx1.HTI

a) Tipo de vector	
plásmido	<input checked="" type="checkbox"/>
bacteriófago	<input type="checkbox"/>
virus	<input type="checkbox"/>
cósmido	<input type="checkbox"/>
Elemento de transposición	<input type="checkbox"/>
Otros (especifíquense): Vector de Cromosoma Artificial Bacteriano (BAC)	
b) Identidad del vector:	
plásmido pBACe3.6	
plásmido SAdV-Y25 ΔE1	
plásmido pC255 (SAdV-Y25 ΔE1 + HTI)	
c) Gama de organismos huéspedes del vector:	
<i>Escherichia coli</i>	
El plásmido se replica en la cepa de laboratorio de <i>E. coli</i> .	
Células HEK 293	

d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable
Sí No
Resistencia a los antibióticos
Las regiones E1 y E3 del genoma de ChAdOx1 han sido delecionadas, y la región E4 nativa ha sido modificada por la inserción de las regiones E4Orf4, Orf6 and Orf6/7 del adenovirus humano tipo 5.
Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta: No aplica

e) Fragmentos constituyentes del vector
ChAdY25, después de haber sufrido todas estas modificaciones, se denomina ChAdOx1. Así pues, es en ChAdOx1 donde el antígeno HTI será insertado.
ChAdOx1 es el serotipo Y25 tras haber sido modificado genéticamente e incapacitado para la replicación para realizar dichas modificaciones se utilizó como herramienta (“vector de rescate”) un vector de Cromosoma Artificial Bacteriano (BAC) que contenía el genoma de ChAdY25 silvestre (plasmido pBAC e3.6). ChAdOx1, fue creado a partir de pBAC e3.6 utilizando técnicas de recombinación molecular estándar. El genoma resultante fue clonado en un vector BAC pBAC e3.6 ΔE1 clone. Finalmente, el cassette de expresión de HTI fue insertado en pBAC e3.6 ΔE1 clone para hacer el plásmido BAC pC255. El plásmido pC255 dirige la inserción de un gen de interés, en este caso el gen deficiente para la replicación del adenovirus de chimpancé ChAdOx1 con el inserto de antígenos HTI.
. .

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

i) transformación

ii) electroporación

iii) macroinyección

iv) microinyección

v) infección

vi) otros, (especifíquense): **Transfección.**

Los lotes se producen transfectando pC255 linealizado en células HEK293A T-REx® comerciales, que expresan de manera estable la proteína represora de tetraciclina (Tet), usando lipofectamina.

*****Toda la información relativa a MVA.HTI se encuentra en el expediente B/ES/16/11**

5. Si las repuestas a C. 3) a) y b) son negativas, ¿qué método se siguió en el proceso de modificación?

No aplica.

- | | |
|----------------------------|--------------------------|
| i) transformación | <input type="checkbox"/> |
| ii) microinyección | <input type="checkbox"/> |
| iii) macroencapsulación | <input type="checkbox"/> |
| iv) macroinyección | <input type="checkbox"/> |
| v) otros, (especifíquense) | <input type="checkbox"/> |

6. Información sobre el fragmento de inserción:

a) Composición del fragmento de inserción:

HTI:

HTI es un inmunógeno para la estimulación de células T VIH-1 específicas especialmente diseñado para combatir el mayor obstáculo en el desarrollo de una vacuna eficaz para el VIH-1 aplicable de forma global, la enorme variabilidad del VIH-1. El HTI es una secuencia constituida por 16 fragmentos del genoma del VIH-1 (virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1) cada uno entre 11 y 78 aminoácidos de longitud y que codifican para dianas críticas de las proteínas víricas Gag (45%), Pol (44%), Vif (8%) y Nef (3%) .

El diseño del HTI se basó en la identificación de dianas beneficiosas para las células T provenientes de 232 individuos infectados por el VIH del subtipo B, no tratados. De 410 18mer péptidos superpuestos, se seleccionaron 26 péptidos superpuestos los cuales generan la respuesta inmunogénica de interés. El gen (codón-optimizado) HTI se sintetizó químicamente por GeneArt (Alemania).

El fragmento HTI contiene enlazadores de Alanina entre los segmentos (uno, dos o tres residuos de alanina, según se muestra en la Ilustración 2), y que se incluyeron con el fin de inducir la escisión proteolítica preferencial entre los segmentos, y evitar así la digestión prematura del epítipo (Le Gall *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2012).

Además, el fragmento HTI contiene un péptido señal GM-CSF humano (AA 1-17; Genbank Nr NP_000749) en el extremo N-terminal para mejorar la translocación al retículo endoplásmico.

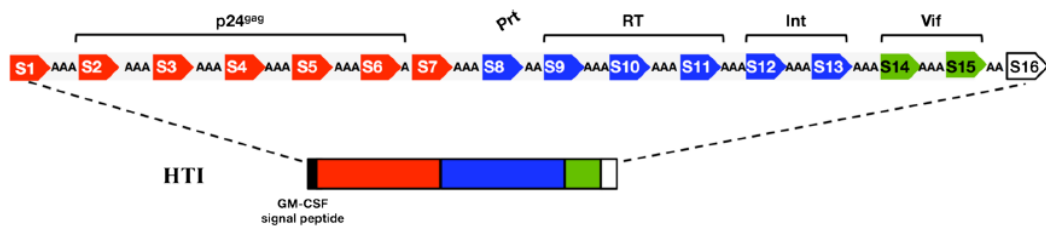


Ilustración 1. Proteína HTI

La proteína HTI se compone de 16 segmentos individuales dispuestos de forma lineal y unidos a través de enlazadores de 1-3 aminoácidos alanina y contiene el péptido señal de GM-CSF (negro) para una mejor secreción. La longitud total de la proteína es HTI 529 aa, incluyendo enlazadores de alanina.

b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción:

Las secuencias del transgén HTI son 16 fragmentos correspondientes a dianas críticas del genoma del VIH-1, identificadas a partir de individuos infectados por el VIH-1 del subtipo B. A continuación se muestra una lista de los péptidos superpuestos identificados e incorporados en el diseño final del inmunógeno de células T (Mothe *et al.*, 2011).

Tabla 1: Lista de péptidos solapantes beneficiosos identificados (OLP, PR> 1) incorporado en el diseño final del inmunógeno de células T, basado en un análisis anterior.

OLP no.	Protein	Subunit	OLP clade B cons sequence
3	Gag	p17	EKIRLRPGGKKKYKHKHI
6	Gag	p17	ASRELERFAVNPGLL
7	Gag	p17	ERFAVNPGLLETSEGCR
10	Gag	p17	QLQPSLQTGSEELRSLY
12	Gag	p17	SLYNTVATLYCVHQRIEV
23	Gag	p24	AFSPEVPMFSALSEGA
31	Gag	p24	IAPGQMREPRGSDIA
34	Gag	p24	STLQEQIGWMTNPPPIPV
48	Gag	p24	ACQGVGGPGHKARVLAEA
60	Gag	p15	GKIWPSHKGRPGNQLQSR
75	Nef	-	WLEAQEEEEVGFVVRPQV
159	Pol	Prt	KMIGGIGGFIKVRQYDQI
160	Pol	Prt	FIKVRQYDQILIEICGHK
161	Pol	Prt	QILIEICGHKAIGTVLV
163	Pol	Prt	LVGPTPVNIIGRNLLTQI
171	Pol	RT	LVEICTEMEKEGKISKI
195	Pol	RT	LRWGFTTPDKKHQKEPPF
196	Pol	RT	DKKHQKEPPFLWMGYELH
210	Pol	RT	EIQKQGQGWTYQIY
269	Pol	Int	TKELQKQITKIQNFRVYY
270	Pol	Int	TKIQNFRVYYRDSRDPLW
271	Pol	Int	YYRDSRDPLWKGPAKLLW
276	Pol	Int	KIIRDYGKQMAGDDCVA
405	Vif	-	VKHHMYISGKAKGWFYRH
406	Vif	-	GKAKGWFYRHHYESTHPR
424	Vif	-	TKLTEDRWKPKQKTKGHR

El gen (codón-optimizado) HTI se sintetizó químicamente por GeneArt (Alemania).

<p>c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG</p> <p>El fragmento HTI tiene una longitud total de 529 aminoácidos, incluyendo una alta densidad de ambos epítomos de células T CD4 y CD8 en todas las subunidades de proteínas restringidas por 42 alelos diferentes de HLA (n = 55 epítomos de CTL bien caracterizados, y las 6 dianas de Gag más comunes para células CD4 T helper).</p> <p>Por lo tanto, la función del inmunógeno HTI es la inducción de una respuesta inmunitaria de células T VIH-1 específicas, dirigidas contra las regiones incluidas en el inserto HTI, que pueden ayudar a controlar la infección por VIH-1 de forma eficaz.</p>
<p>d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor:</p> <ul style="list-style-type: none"> - en un plásmido libre <input type="checkbox"/> - integrado en el cromosoma <input checked="" type="checkbox"/> - Otros especifíquense): integrado en el genoma del ChAdOx1 bajo el control del promotor H5 modificado.
<p>e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o función no se conozcan?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>En caso afirmativo , especifíquese: -</p>

*****Toda la información relativa a MVA.HTI se encuentra en el expediente B/ES/16/11**

D. Información sobre el organismo u organismos de los que se deriva el fragmento de inserción (donante)

La siguiente información está relacionada con el organismo de procedencia del transgén insertado (HTI): el virus de la inmunodeficiencia humana o VIH-1, por lo que aplica de igual forma a los dos OMGs (ChAdOx1.HTI y MVA.HTI).

1. Indíquese si es:

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input checked="" type="checkbox"/>
Virus ADN	<input type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>

- mamíferos
- insectos
- peces
- otro animal (especifique el phylum y la clase):

Otros (especifíquense): HTI es una secuencia de 16 fragmentos del genoma del VIH-1 (virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1) de entre 11 y 78 aminoácidos cada uno.

2. Nombre completo

i) Orden y taxón superior (animales):
ii) Familia (plantas): Retroviridae
iii) Género: Lentivirus
iv) Especie: Human
v) Subespecie: VIH tipo 1. El fragmento HTI está constituido por fragmentos del genoma del virus VIH-1 subtipo B
vi) Cepa: -
vii) Cultivar/línea de reproducción: -
viii) Patovar: -
ix) Nombre vulgar: VIH-1, virus de la inmunodeficiencia humana.

3. ¿Es el organismo vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier otra forma?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese		
(a) ¿para cuál de los organismos siguientes?	humanos	<input checked="" type="checkbox"/>
	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
	otros	<input type="checkbox"/>
(b) ¿están implicadas de alguna forma las secuencias donadas en las propiedades patógenas o nocivas del organismo?		
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>

En caso afirmativo, proporcione la información pertinente de conformidad con la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II del Anexo III A:

El VIH-1 infecta y destruye directamente las células que son críticas para una respuesta inmunitaria efectiva, explicando las manifestaciones clínicas derivadas de la progresiva inmunodepresión. El VIH-1 es un virus ARN, cuyas principales células diana son los linfocitos CD4+ T-helper, macrófagos y algunas poblaciones de células dendríticas. Tras la entrada, se inicia en el citoplasma celular la retrotranscripción del genoma viral (ARN). El ADN de doble cadena producto de esta retrotranscripción se transporta al núcleo celular donde se integra en el ADN cromosómico de la célula infectada, un paso necesario para la síntesis eficiente de ARN viral y consecuente producción de nuevas partículas virales infecciosas. Los lentivirus como el VIH-1, son los únicos entre los retrovirus, capaces de generar productos de pre-integración que pueden ser transportados a la interfase del núcleo de células secuestradas en la fase G1 del ciclo celular.

Las infecciones *in vivo* por VIH-1 se limitan a humanos y chimpancés y su transmisión es por contacto con sangre, relaciones sexuales o por transmisión vertical de madre-hijo durante el embarazo y el parto. El curso de la enfermedad en humanos varía enormemente entre las personas infectadas. El tiempo entre la infección y el desarrollo del SIDA –definido por la reducción de los niveles de CD4 por debajo de 200 células/ μ l o la aparición de enfermedades oportunistas o cánceres relacionados con el SIDA, puede ir desde los 6 meses hasta más de 25 años.

Los lentivirus se limitan típicamente en su rango de huésped, aunque infecciones cruzadas entre especies de forma natural –o experimental- han sido documentadas. Sin embargo, en los chimpancés -el único primate no humano capaz de infectarse con el VIH-1- no presenta inmunodeficiencia ni enfermedad a largo plazo. Durante la primoinfección por VIH-1 puede aislarse durante algunas semanas el virus circulando de forma intermitente, pero es luego resuelta de forma asintomática en la mayoría de los casos.

Los fragmentos o secuencias incluidos en el inmunogéno HTI no participan en las propiedades patógenas del virus.

4. **¿Está clasificado el organismo donante con arreglo a normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente como, por ejemplo, la Directiva 90/679/ CEE sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo?**

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
--	-----------------------------

En caso afirmativo, especifíquese:
El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH-1) está clasificado como nivel de bioseguridad de clase 3*D. El gen HTI sin embargo se produce por síntesis química, no por replicación del VIH-1, por lo que no tiene clasificación sobre seguridad.

5. ¿Intercambian los organismos donante y receptor material genético de forma natural?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
-----------------------------	--	-------------------------------------

E. Información sobre el organismo modificado genéticamente
ChAdOx1.HTI

1. Rasgos genéticos y características fenotípicas del organismo receptor o parental que hayan sufrido algún cambio como resultado de la modificación genética

a) ¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que a capacidad de supervivencia se refiere?
Sí No No se sabe
Especifíquese:

Aunque la supervivencia y estabilidad del ChAdOx1.HTI es similar al virus original ChAdY25, ChAdOx1.HTI no tiene capacidad de replicación en células que no expresen la región E1 del adenovirus.

b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?
Sí No No se sabe
Especifíquese:

ChAdOx1.HTI es un virus recombinante, completamente deficiente para replicación debido a que la región E1 han sido reemplazada por el casete de expresión para antígenos HTI.

c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?
Sí No No se sabe
Especifíquese:

Al ser ChAdOx1.HTI deficiente para la replicación, su diseminación está limitada al momento de su administración a pacientes.

d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?
Sí No No se sabe

Especifíquese:

ChAdOx1.HTI no se puede replicar, por lo tanto, no es patogénico. La imposibilidad de replicar desde las células originalmente infectadas evita que se propague a otras células, lo que cambia completamente la patogenicidad.

*****Toda la información relativa a MVA.HTI se encuentra en el expediente B/ES/16/11**

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

ChAdOx1.HTI

Una vez administrado, ChAdOx1.HTI se dirige y localiza en el núcleo de la célula huésped, sin embargo, no integra su ADN en el genoma de esta (Rauschhuber *et al.*, 2012; Athanasopoulos *et al.*, 2017). La integración del ADN de adenovirus en el genoma es un evento extremadamente raro que solo se ha observado en algunos cultivos de líneas celulares primarias humanas (Hogg, 2000). Según las guías de la EMA, los vectores adenovirales se consideran vectores no integradores (EMEA/273974/2005, 2006).

ChAdOx1.HTI es un virus genéticamente estable incapaz de integrar su ADN en el genoma del huésped y que permanece localizado en el citoplasma celular hasta la destrucción de la célula (Rauschhuber *et al.*, 2012; Athanasopoulos *et al.*, 2017).

La estabilidad genética se verifica en distintos pasos del proceso de producción. Durante la fabricación de ChAdOx1.HTI diferentes estudios se realizan en cada uno de los pasos de producción:

- Western blot para confirmar tamaño correcto de la proteína del transgén.
- Secuenciación completa del transgén.
- Secuenciación completa del vector.
- qPCR para confirmar presencia del hexón.
- Análisis del vector con encimas de restricción.

*****Toda la información relativa a MVA.HTI se encuentra en el expediente B/ES/16/11**

3. ¿Es el OMG, vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier forma?

ChAdOx1.HTI

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:		
a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?	humanos	<input type="checkbox"/>
	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
	otros	<input type="checkbox"/>

b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II y en el inciso i) del punto 2 de la letra C de la sección II del anexo III A.

Como ya mencionado anteriormente en los apartados B.7. (b) y D.3.(b) y según la Directiva 2000/54/CE (Directiva 2000/54/EC, 2000), los adenovirus se clasifican como agentes biológicos de tipo 2 debido a su limitada patogenicidad.

Los adenovirus humanos comúnmente causan infección asintomática en humanos, aunque también pueden causar infecciones del tracto respiratorio, gastrointestinales, incomodidad o infecciones oculares de severidad variable. Son más comunes en niños y en la población inmunocomprometida. El período de incubación varía de 1 a 10 días. La mayoría de la población es seropositiva para más de una subespecie de adenovirus y puede producir rápidamente anticuerpos neutralizantes.

Normalmente, el virus se infecta a través del tracto respiratorio o los ojos a través de aerosoles producidos por personas infectadas. La mayoría de las infecciones son de naturaleza leve. Los adenovirus raramente se integran en el genoma de las células huésped y no persisten en los tejidos linfoides.

Las infecciones por adenovirus en primates no humanos (NHP) también son predominantemente leves.

Adenovirus inhabilitados para la replicación se han utilizado ampliamente en ensayos clínicos.

Los adenovirus que carecen de la región E1 se clasificaron como agentes biológicos de nivel de bioseguridad de clase 1.

Los fragmentos o secuencias incluidos en el inmunogéno HTI no participan en las propiedades patógenas del virus.

*****Toda la información relativa a MVA.HTI se encuentra en el expediente B/ES/16/11**

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

ChAdOx1.HTI

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG en el medio ambiente:

No hay previstas técnicas de detección e identificación en el medio ambiente.

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

Los adenovirus se detectan mediante PCR según secuencias genéricas de adenovirus de chimpancé o específicas para ChAdOx1.HTI. También pueden detectarse con ensayos de inmunocitoquímica utilizando anticuerpos específicos anti-hexón de ChAdY25.

Durante la fabricación de ChAdOx1.HTI diferentes estudios se realizan en cada uno de los pasos de producción:

- Western blot para confirmar tamaño correcto de la proteína del transgén.
- Secuenciación completa del transgén.
- Secuenciación completa del vector.
- qPCR para confirmar presencia del hexón.
- Análisis del vector con enzimas de restricción.

*****Toda la información relativa a MVA.HTI se encuentra en el expediente B/ES/16/11**

F. Información sobre la liberación

1. Finalidad de la liberación (incluido todo beneficio ambiental potencial significativo esperado)

El ensayo propuesto tiene por finalidad estudiar la seguridad e inmunogenicidad de ambos GMOs, así como investigar la capacidad de ambos, solos, juntos, o en secuencia con GS-9620, para reducir el reservorio viral.

La pauta de vacunación consiste en una dosis de 5.0×10^{10} Vp de ChAdOx1.HTI en las semanas 0 y 12 y una dosis de 2×10^8 pfu de MVA.HTI en las semanas 24 y 36. La administración se realizará por vía intramuscular. En las semanas 26, 28, 30, 32, 34, 38, 40, 42, 44 y 46 se administrará 8 mg (oral) de GS-9620 (Vesatolimod, no es una vacuna) (Lanford *et al.*, 2013; Bam *et al.*, 2017).

2. ¿Es diferente el lugar de liberación del hábitat natural o del ecosistema en el que se utiliza, se mantiene o se encuentra regularmente el organismo receptor o parental?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
<p>En caso afirmativo, especifíquese: El ChAdOx1 no existe de forma natural en nuestro ecosistema. El anfitrión natural del adenovirus ChAdY25 de tipo salvaje es el chimpancé. El adenovirus parental no se encuentra en el ecosistema natural fuera de su huésped natural. El organismo parental se aisló de las heces de un chimpancé y se modificó genéticamente.</p>	

***Toda la información relativa a MVA.HTI se encuentra en el expediente B/ES/16/11

3. Información relativa a la liberación y a la zona circundante

a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda):
 La preparación de la dosis y las vacunaciones con MVA.HTI y ChAdOx1.HTI se realizará en 9 centros hospitalarios de España:

- Hospital Universitari Germans Trias i Pujol (HUGTP) (Barcelona).
- Hospital Universitario Vall d'Hebrón (HUVDH) (Barcelona).
- Hospital Universitario Ramón y Cajal (HURyC) (Madrid).
- Hospital Universitario La Paz (HUP) (Madrid)
- Hospital Universitario Virgen del Rocío (HUVR) (Sevilla)
- H. Clínic (HC) (Barcelona)
- H.U. Gregorio Marañón (HUGM) (Madrid)
- H. U de Bellvitge (HUB) (Barcelona)
- H.U. 12 de Octubre (HU12O) (Madrid)

b) Área del lugar (m ²):		
(i) lugar real de la liberación (m ²):		
	Área de liberación real (m ²)	Total (m ²)
H.U. Germans Trias i Pujol	4.41	
H.U. Vall d'Hebrón	70.37	
H. Ramón y Cajal	12	
H.U. La Paz	50	
H.U. Virgen del Rocío	120	
H. Clínic		
H.U. Gregorio Marañón		
H. U de Bellvitge		
H.U. 12 de Octubre		
		256.78
(ii) área de liberación más amplia (m ²):		
	Área de liberación máxima (m ²)	Total (m ²)
H.U. Germans Trias i Pujol	22	
H.U. Vall d'Hebrón	150	
H.U. Ramón y Cajal	12	
H.U. La Paz	50	
H.U. Virgen del Rocío	120	
H. Clínic		
H.U. Gregorio Marañón	190	
H. U de Bellvitge		
H.U. 12 de Octubre	250	
		794
c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados: No aplica, la afectación a estas áreas no es posible.		
d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG: No aplica, la afectación a estas áreas no es posible.		

4. Método y amplitud de la liberación

<p>a) Cantidad de OMG que vaya a liberarse: Se incluirán un máximo de 90 personas. En total, 60 pacientes recibirán ChAdOx1 y MVA.HTI: -50 sujetos recibirán el tratamiento de ChAdOx1 y MVA.HTI (+GS-9620) -10 pacientes ChAdOx1.HTI y MVA.HTI</p>
--

	Número de pacientes	Número de dosis	Volumen /dosis	Concentración/dosis (partículas virales, Vp)	Concentración/dosis (unidades formadoras de placas, pfu)
ChAdOx1.HTI	60	2	0.5 ml	5.0 X 10 ¹⁰ Vp	
MVA.HTI	60	2	0.5 ml		2 x 10 ⁸ pfu
TOTAL	60	240	120 ml	Total Vp of ChAdOx1.HTI = 6 X 10 ¹² Vp	Total pfu of MVA.HTI = 24 X 10 ⁹ pfu

b) Duración de la operación:

Cada vacunación dura unos minutos.

Todos los pacientes serán seguidos 84 semanas después de la vacunación inicial (desde la línea de base hasta 48 semanas después de la última vacuna). Se permitirá un período de 8 semanas desde la evaluación hasta la visita inicial (primera vacuna).

(c) Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación:

Los OMG se liberarán únicamente para uso clínico.

El personal implicado en la preparación del producto trabaja según las condiciones especificadas en las normas de Buenas Prácticas Clínicas y de Buenas Prácticas de Fabricación.

El laboratorio de fabricación (ReiThera/Advent) ubicado en Italia, prepara y envasa el producto en viales sellados herméticamente y etiquetados en forma adecuada. Los viales serán enviados desde Italia mantenidos a -80°C y almacenados hasta su uso en el Servicio de Farmacia los diferentes centros hospitalarios. La administración se realiza bajo responsabilidad del investigador, de acuerdo con un protocolo clínico y respetando las Normas de Buena Práctica Clínica.

El producto se preparará en condiciones asépticas: el personal que preparará las vacunas utilizará técnicas estériles (guantes, mascarillas y batas desechables). El producto se preparará en condiciones asépticas, en cumplimiento adecuado a la preparación de inyectables en una sala cerrada con características BSL-1. La solución se transferirá a una jeringa de 1 ml de insulina en condiciones asépticas mediante un dispositivo de transferencia de sistema cerrado validado (CSTD). El área utilizada para la preparación para su inyección debe descontaminarse antes y después de la manipulación con jabón desinfectante Safe Seft® y alcohol de 70°C.

Todos los transportes del producto se realizan utilizando un contenedor cerrado del servicio de farmacia al lugar de administración del producto.

El lugar de inoculación de la vacuna de los pacientes (zona deltoidea) se limpia con clorhexidina digluconato al 2% hasta su evaporación antes de la inyección y se cubre apropiadamente tras la administración.

El personal que administrará el producto a los pacientes utilizará 'precauciones universales', es decir, uso de batas y guantes desechables, así como desechará el material contaminado inmediatamente después de la administración de acuerdo a la gestión de residuos sanitarios grupo III.

Después de la administración, todas las superficies se limpian con jabón antiséptico que contiene un 4% de digluconato de clorhexidina antes y después de su uso. El material utilizado durante la preparación y administración se considera residuo sanitario Grupo III y se gestionará como tal. Concretamente, las tallas (si se usaran), guantes, bata, jeringas y agujas se desecharán en contenedores herméticos amarillos específicos para residuos sanitarios de grupo III disponibles tanto en la sala de preparación como en la consulta de administración. Los viales utilizados se devolverán al servicio de farmacia en contenedores cerrados para su destrucción al finalizar el estudio siguiendo los protocolos del servicio de farmacia.

En caso de contaminación accidental, cada superficie contaminada deberá tratarse de acuerdo con los procedimientos establecidos por el promotor del ensayo clínico. Todo el personal implicado en la manipulación del producto debe ser informado de que en caso de contaminación cutánea hay que lavar inmediatamente la piel profusamente con agua y desinfectar localmente con yodo al 4% y, en caso de contaminación ocular, se recomienda lavar y enjuagar únicamente con agua. Se debe realizar asimismo una evaluación por el oftalmólogo tan pronto como sea posible. No está proyectado ningún análisis biológico específico para el personal que maneje el producto.

5. Descripción resumida de las condiciones ambientales medias (clima, temperatura, etc.)

No aplica. Todas las preparaciones y vacunaciones se realizarán en consultas hospitalarias.

6. Datos pertinentes sobre liberaciones anteriores del mismo OMG. Si los hubiera, específicamente relacionados a las repercusiones potenciales de la liberación en el medio ambiente y la salud humana

ChAdOx1.HTI

No existen liberaciones anteriores de ChAdOx1.HTI.
No obstante, existen liberaciones previas de OMG con insertos altamente similares (B/ES/12/10 y B/ES/15/12).
Vectores de chimpancé similares también han sido ya utilizados en dos notificaciones previas para la liberación voluntaria de adenovirus recombinantes en ensayos clínicos (B/ES/12/09 y B/ES/16/07).

*****Toda la información relativa a MVA.HTI se encuentra en el expediente B/ES/16/11**

G. Interacciones del OMG con el medio ambiente y repercusiones potenciales sobre este, si es apreciablemente diferente del organismo receptor o parental

1. Nombre del organismo objeto de investigación (si procede)

i) Orden y taxón superior (animales): Primates
ii) Familia (plantas): Hominidae
iii) Género: Homo
iv) Especie: sapiens
v) Subespecies: sapiens
vi) Cepa: no aplica
vii) Cultivar/Línea de reproducción: no aplica
viii) Patovar:
ix) Nombre vulgar: humano

2. Mecanismo previsto y resultado de la interacción entre los OMG liberados y el organismo diana (si procede).

Desarrollo de respuestas celulares T VIH-1 específicas dirigidas contra las regiones incluidas en el inmunógeno HTI.

3. Otras interacciones potencialmente significativas con otros organismos en el medio ambiente

La posibilidad de transferencia génica a otras especies es mínima en las condiciones de liberación propuestas de los OMG. Los OMG se administrará en las unidades hospitalarias mencionadas anteriormente y es improbable que entre en contacto con otras especies animales.

Al ser ChAdOx1.HTI inoculado a sujetos que también serán inoculados con MVA.HTI posteriormente a ChAdOx1.HTI, cabe la posibilidad que el gen codificado HTI se transfiera del genoma de uno a otro por recombinación homóloga, sea deletado de uno de ellos o duplicado en el otro. La consecuencia de este improbable suceso sería inocua, ya que primero, ninguno de los dos organismos (MVA.HTI y ChAdOx1.HTI) tiene capacidad de replicación y segundo, los fragmentos o secuencias incluidos en el inmunógeno HTI no participan en las propiedades patógenas del virus.

4. ¿Es probable que se dé una selección posterior a la liberación del OMG como, por ejemplo, una competencia mayor. un carácter más invasivo, etc.?

Sí	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe
Especifíquese: El OMG (ChAdOx1.HTI) es un adenovirus recombinado de chimpancé, vivo sin capacidad de replicación debido a deleciones y modificaciones genómicas. Por lo tanto, ChAdOx1.HTI debería tener competitividad e invasividad reducidas en comparación con el virus de la ChAdY25.		

5. Tipos de ecosistemas a los que puede extenderse el OMG desde el lugar de liberación y en los cuales puede quedar establecido

Dadas las características de la atenuación y/o modificaciones que afecta la capacidad de replicación, así como por las medidas de gestión del riesgo de liberación que se prevén en este estudio, no es probable que los OMG puedan ser liberados al ecosistema ni puedan ser diseminados desde el lugar de liberación. En el caso de los MVAs, estos han sido utilizados ampliamente en ensayos clínicos, tanto en administración directa como en estrategias de terapia celular (contenidos en el interior de células).

En el caso improbable de que se produzca la administración involuntaria a organismos distintos del objetivo, la posterior diseminación sería improbable debido a la incapacidad de ambos de replicarse.

6. Nombre completo de los organismos que no son el organismo diana, pero que (teniendo en cuenta la naturaleza del medio ambiente receptor) pueden sufrir accidentalmente daños importantes por la liberación del OMG.

No aplica.

i) Orden y taxón superior (animales): -
ii) Familia (plantas): -
iii) Género: -
iv) Especie: -
v) Subespecie: -
vi) Cepa: -
vii) Cultivar/línea de reproducción: -
viii) Patovar: -
ix) Nombre vulgar: -

7. Probabilidad de intercambio genético *en vivo*

a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación: Altamente improbable.
b) De otros organismos al OMG: Altamente improbable. Como ha sido mencionado previamente en la sección G.3, al ser ChAdOx1.HTI inoculado a sujetos que también serán inoculados con MVA.HTI, cabe la posibilidad que la región HTI se transfiera del genoma de uno a otro por recombinación homóloga, sea delecionado de uno de ellos o duplicado en el otro. La posibilidad de recombinación con otros virus no puede ser excluida ya que ChAdOx1.HTI podría, teóricamente, intercambiar su material genético con un

adenovirus silvestre si la misma célula fuese coinfectada por ambos. En este caso, ChAdOx1.HTI podría readquirir su capacidad de replicación. La probabilidad de que ocurra esto es extremadamente baja debido a que ChAdOx1.HTI es incapaz de replicarse, por lo que la infección involucraría a un número muy limitado de partículas virales, que además serían rápidamente eliminadas por el sistema inmune. Por todo esto, en el hipotético caso de que una posible transmisión horizontal ocurra, no tendrían ningún efecto sobre la salud de las personas en contacto con el sujeto vacunado. Además, individuos que han estado expuestos naturalmente a adenovirus de tipo silvestre desarrollan anticuerpos neutralizantes que constituyen una barrera adicional que protege contra la posible transmisión horizontal de vectores adenovirales.

De la misma manera, en caso de co-infección con un adenovirus silvestre, podría darse el caso en que el gen HTI sea transferido al adenovirus silvestre, competente en replicación. Requeriría co-localización / co-infección de las mismas células en el mismo huésped, lo que es muy poco probable, especialmente en humanos, porque ChAdOx1.HTI es un adenovirus de chimpancé y la homología es menor.

c) Consecuencias probables de la transferencia de genes:

Ninguna, dado que el HTI es una secuencia diseñada exclusivamente para la inducción de respuesta celular T específica a través de 26 péptidos superpuestos del genoma del VIH, por lo que no es patogénica.

- 8. Referencias de los resultados pertinentes (si los hay) de estudios sobre el comportamiento y las características del OMG sobre su repercusión ecológica llevados a cabo en ambientes naturales simulados (por ejemplo, microcosmos, etc.)**

No existen.

- 9. Posibles interacciones ambientalmente significativas con procesos biogeoquímicos (si son diferentes del organismo receptor o parental)**

No aplica.

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

ChAdOx1.HTI

Los adenovirus de chimpancé son cada vez más utilizados en ensayos clínicos como una alternativa ventajosa con respecto a los adenovirus humanos debido a su gran capacidad para generar respuesta inmune, la posibilidad de insertar secuencias más largas y la falta de inmunidad contra el vector debido a la no exposición previa. No se espera ninguna supervivencia del ChAdOx1.HTI dado que se encuentra exclusivamente en el citoplasma de la célula y es incapaz de producir partículas de vector en células humanas fuera del lugar de inoculación. La posibilidad de transferencia génica a otras especies es mínima en las condiciones de liberación propuestas.

Debido pues al conocimiento adquirido en ensayos clínicos previos y a otras estrategias en terapia celular, no se ha planificado llevar a cabo ninguna detección viral específica relacionada con el ChAdOx1.HTI en líquidos biológicos ni en sangre durante el ensayo clínico propuesto.

Se realizará monitorización de efectos secundarios del tratamiento en ensayo mediante exploración física, analíticas de sangre y comunicación de eventos adversos. La evaluación de la seguridad se realizará a lo largo de la participación de los pacientes en el ensayo clínicos y hasta 12 semanas después de la última inyección en el estudio (ver detalle en protocolo adjunto).

***Toda la información relativa a MVA.HTI se encuentra en el expediente B/ES/16/11

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

No se ha planificado llevar a cabo ningún método de seguimiento sobre las repercusiones en el ecosistema dado que los OMG no se encuentra de manera natural en el medio ambiente y no tiene capacidad replicativa, por lo que se considera que no hay posibilidades de que haya repercusiones en el ecosistema ya que el OMG en cuestión no tiene capacidad infecciosa. Se monitorizarán de forma clínica a los pacientes.

3. Métodos de detección de la transferencia del material genético donado del OMG a otros organismos

No planificados dado que este suceso es altamente improbable (ver apartados anteriores).

4. Tamaño del área de seguimiento (m²)

No aplicable. El OMG se administra a los pacientes mediante inyección intramuscular en consultas hospitalarias, como se ha descrito en la sección F.

5. Duración del seguimiento

La evaluación de la seguridad se realizará a lo largo de la participación de los pacientes en el ensayo clínico, incluidas las fases de extensión en el caso de que las hubiera.

6. Frecuencia del seguimiento

No aplica

I. Información sobre el tratamiento post-liberación y el tratamiento de residuos

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

La suspensión de virus se transferirá a una jeringa de 1 ml de insulina en condiciones asépticas mediante un dispositivo de transferencia de sistema cerrado validado (CSTD). El lugar de preparación se limpiará con Safe Seft® y alcohol 70° (desinfectantes aprobados por uso GMP) antes y después de la liberación. Las bateas en las que se colocan las jeringas con el producto hasta su administración se limpian con jabón antiséptico que contiene un 4% de digluconato de clorhexidina antes y después de su uso.

El lugar de inoculación de la vacuna de los pacientes (zona deltoidea) se limpia con clorhexidina digluconato al 2% hasta su evaporación antes de la inyección y se cubre apropiadamente tras la administración con una tirita.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

El traslado del material utilizado para la preparación e inyección del OMG se realizará en contenedor amarillo herméticamente sellado especial etiquetada mediante la pegatina de RESIDUOS SANITARIOS – GRUPO III disponible tanto en la sala de preparación como de administración.

3(a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Se prevé generar los siguientes residuos: Viales de vacuna, tallas, jeringas, agujas, sistemas cerrados (CSTD), guantes, batas, tiritas/esparadrapo.

3(b) Tratamiento de residuos

Se introducirán en los siguientes recipientes herméticamente sellados:

Residuos Infecciosos Sólidos:

Deben ir siempre en contenedores de tapa amarilla de cierre hermético etiquetados específicamente para Residuos Sanitarios de Grupo III.

Residuos de Objetos Cortantes o Punzantes:

Se depositarán en contenedores específicos, rígidos y estancos, color amarillo, adecuados en tamaño y forma al uso que se les va a dar. La jeringa de administración adherida al sistema CSTD y aguja se deposita en estos contenedores (Residuos Sanitarios de Grupo III) sin desmontar.

El vial de vacuna usado adherido al adaptador sistema CSTD se devolverá al servicio de farmacia en un contenedor cerrado para su destrucción a la finalización del estudio siguiendo los protocolos específicos del estudio.

La retirada y el cierre final de los contenedores, se llevará a cabo por personal adecuadamente formado y siguiendo las medidas de protección adecuadas.

J. Información sobre planes de actuación en caso de emergencia

1. Métodos y procedimientos de control de la diseminación del OMG o de los OMG en caso de dispersión imprevista

En caso de contaminación del personal involucrado en la preparación, envasado o administración del producto celular, se notificará al investigador principal y al Servicio de Prevención de Riesgos Laborales. Todo el personal recibirá instrucciones sobre los procedimientos a actuar en caso de liberación accidental.

El lugar en el que se produzca la liberación se limpiará con hipoclorito sódico diluido al 1%.

En el caso de contacto con la piel se realizarán lavados enérgicos y posteriormente se desinfectará con una solución con Yodo al 4%.

En caso de contacto con los ojos se realizarán lavados con suero salino por un tiempo no inferior a los 15 minutos. El sujeto tendrá que ser valorado por un oftalmólogo en el menor tiempo posible.

En caso de pinchazo accidental se realizara inmediatamente abundante lavado con agua y jabón y posteriormente la zona de punción será desinfectada con solución de Yodo al 9-12% durante al menos 5 minutos o con solución con hipoclorito sódico de 10 g/L .

Los voluntarios incluidos en el ensayo clínico serán monitorizados como está previsto por el protocolo según normas de buenas prácticas clínicas. Cada evento adverso será notificado al investigador principal y a las agencias reguladoras.

Debido a la gestión del riesgo, el riesgo de liberación ambiental accidental es muy bajo. Además, al tratarse de un virus sin capacidad replicativa, el riesgo ambiental consecuente a liberación accidental puede considerarse mínimo.

2. Métodos de eliminación del OMG o de los OMG de las áreas potencialmente afectadas

El lugar en el que se produzca la liberación se limpiará con hipoclorito sódico diluido al 1%.

3. Métodos de eliminación o saneamiento de plantas, animales, suelos, etc. que pudieran ser expuestos al organismo durante la dispersión o después de la misma

No aplica.

4. Planes de protección de la salud humana y del medio ambiente en caso de que se produzca un efecto no deseable

En el caso de contacto con la piel se realizarán lavados enérgicos y posteriormente se desinfectará con una solución con Yodo al 4%. En caso de contacto con los ojos se realizarán lavados con suero salino por un tiempo no inferior a los 15 minutos. El sujeto tendrá que ser valorado por un oftalmólogo en el menor tiempo posible.

En caso de pinchazo accidental se realizará inmediatamente abundante lavado con agua y jabón y posteriormente la zona de punción será desinfectada con solución de Yodo al 9-12% durante al menos 5 minutos.

Los voluntarios incluidos en el ensayo clínico serán monitorizados como está previsto por el protocolo según normas de buenas prácticas clínicas. Se registrarán y notificarán los acontecimientos adversos según los procedimientos detallados en el protocolo. Debido a las modalidades de administración el riesgo de liberación ambiental accidental es muy bajo. Además, al tratarse de un virus sin capacidad para replicarse, el riesgo ambiental consecuente a liberación accidental puede considerarse mínimo.

References

Athanasopoulos, T, Munye, MM and Yanez-Munoz, RJ (2017). "Nonintegrating Gene Therapy Vectors." Hematol Oncol Clin North Am **31**(5): 753-770.

Bam, RA, Hansen, D, Irrinki, A, Mulato, A, Jones, GS, Hesselgesser, J, Frey, CR, Cihlar, T and Yant, SR (2017). "TLR7 Agonist GS-9620 Is a Potent Inhibitor of Acute HIV-1 Infection in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells." Antimicrob Agents Chemother **61**(1).

Dicks, MD, Spencer, AJ, Edwards, NJ, Wadell, G, Bojang, K, Gilbert, SC, Hill, AV and Cottingham, MG (2012). "A novel chimpanzee adenovirus vector with low human seroprevalence: improved systems for vector derivation and comparative immunogenicity." PLoS One **7**(7): e40385.

Directiva 2000/54/EC (2000). "Protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo."

EMA/273974/2005. "Guideline on non-clinical testing for inadvertent germline transmission of gene transfer vectors" (Last Updated 16/11/2006). European Medicines Agency (EMA), London, UK. Retrieved 02/06/2015 from http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500003982.pdf.

Ferreira, TB, Alves, PM, Aunins, JG and Carrondo, MJ (2005). "Use of adenoviral vectors as veterinary vaccines." Gene Ther **12 Suppl 1**: S73-83.

Hillis, WD and Goodman, R (1969). "Serologic classification of chimpanzee adenoviruses by hemagglutination and hemagglutination inhibition." J Immunol **103**(5): 1089-1095.

Hogg, JC (2000). "Latent adenoviral infection in the pathogenesis of emphysema: the Parker B. Francis Lectureship." Chest **117**(5 Suppl 1): 282S-285S.

Kovesdi, I and Hedley, SJ (2010). "Adenoviral producer cells." Viruses **2**(8): 1681-1703.

Lanford, RE, Guerra, B, Chavez, D, Giavedoni, L, Hodara, VL, Brasky, KM, Fosdick, A, Frey, CR, Zheng, J, Wolfgang, G, Halcomb, RL and Tumas, DB (2013). "GS-9620, an oral agonist of Toll-like receptor-7, induces prolonged suppression of hepatitis B virus in chronically infected chimpanzees." Gastroenterology **144**(7): 1508-1517, 1517 e1501-1510.

Le Gall, S, Stamegna, P and Walker, BD (2007). "Portable flanking sequences modulate CTL epitope processing." J Clin Invest **117**(11): 3563-3575.

Mothe, B, Hu, X, Llano, A, Rosati, M, Olvera, A, Kulkarni, V, Valentin, A, Alicea, C, Pilkington, GR, Sardesai, NY, Rocafort, M, Crespo, M, Carrillo, J, Marco, A, Mullins, JI, Dorrell, L, Hanke, T, Clotet, B, Pavlakis, GN, Felber, BK and Brander, C (2015). "A human immune data-informed vaccine concept elicits strong and broad T-cell

specificities associated with HIV-1 control in mice and macaques." J Transl Med **13**(1): 60.

Mothe, B, Llano, A, Ibarondo, J, Daniels, M, Miranda, C, Zamarreno, J, Bach, V, Zuniga, R, Perez-Alvarez, S, Berger, CT, Puertas, MC, Martinez-Picado, J, Rolland, M, Farfan, M, Szinger, JJ, Hildebrand, WH, Yang, OO, Sanchez-Merino, V, Brumme, CJ, Brumme, ZL, Heckerman, D, Allen, TM, Mullins, JI, Gomez, G, Goulder, PJ, Walker, BD, Gatell, JM, Clotet, B, Korber, BT, Sanchez, J and Brander, C (2011). "Definition of the viral targets of protective HIV-1-specific T cell responses." J Transl Med **9**: 208.

Rauschhuber, C, Noske, N and Ehrhardt, A (2012). "New insights into stability of recombinant adenovirus vector genomes in mammalian cells." Eur J Cell Biol **91**(1): 2-9.

Shizuya, H, Birren, B, Kim, UJ, Mancino, V, Slepak, T, Tachiiri, Y and Simon, M (1992). "Cloning and stable maintenance of 300-kilobase-pair fragments of human DNA in Escherichia coli using an F-factor-based vector." Proc Natl Acad Sci U S A **89**(18): 8794-8797.

Zhang, SC, Martin, E, Shimada, M, Godfrey, SB, Fricke, J, Locastro, S, Lai, NY, Liebesny, P, Carlson, JM, Brumme, CJ, Ogbechie, OA, Chen, H, Walker, BD, Brumme, ZL, Kavanagh, DG and Le Gall, S (2012). "Aminopeptidase substrate preference affects HIV epitope presentation and predicts immune escape patterns in HIV-infected individuals." J Immunol **188**(12): 5924-5934.